

Agilent 1260 Infinity II Prime LC と ISET

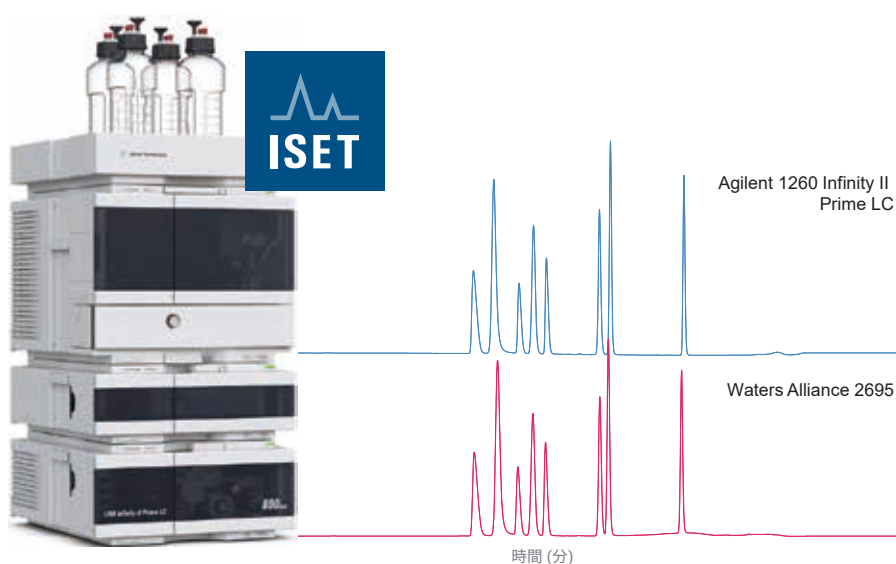
Waters Alliance LC のエミュレーションによる メトクロプラミドとその不純物の分析

著者

Melanie Metzloff
Agilent Technologies, Inc.

概要

機器間のメソッド移管は、さまざまな業界において非常に重要な課題であり、特に規制を受ける医薬品業界ではきわめて重要となります。アジレントのインテリジェントシステムエミュレーション技術 (ISET) を利用すれば、分析メソッドを従来の LC システムから Agilent UHPLC システムへシームレスに移管できます。このアプリケーションノートでは、ISET によって、Waters Alliance 2695 LC の分析メソッドを Agilent 1260 Infinity II Prime LC へ容易に移管できることを実証します。メトクロプラミドとその不純物を両システムで分析しました。両システムでのリテンションタイムと分離能を評価し、比較しました。



はじめに

従来の HPLC システムから Agilent 1260 Infinity II Prime LC などの UHPLC システムへの分析メソッドの移管は、重要な作業です。多くのラボ、特に厳しい規制が課される環境にとっては、きわめて大きな課題になることも珍しくありません。確立された分析メソッドを変更する場合、時間とコストのかかる再バリデーションが必要になることがあります。Agilent 1260 Infinity II Prime LC では、Waters Alliance 2695 LC などの従来の LC システムを、ISET によって容易にエミュレーションできます¹。

ほとんどの LC メソッドでは、直線的な溶媒強度グラジエントを用います。しかし、Alliance 2695 LC は、凹型や凸型のグラジエントカーブなど、異なるグラジエントプロファイルを用いることができます。ISET 搭載の 1260 Infinity II Prime LC は、このようなグラジエントカーブのエミュレートが可能です。

このアプリケーションノートでは、制吐薬であるメトクロプラミドと 7 種の不純物の分析について説明します。この医薬品混合物の分離には、Waters Alliance 2695 LC を用いて凹型グラジエントを適用しました。分析メソッドは、ISET によって Agilent 1260 Infinity II Prime LC に移管しました。両システムでのリテンションタイムと分離能を評価し、比較しました。

実験方法

装置構成

メトクロプラミドとその不純物の分析には、次の機器を使用しました。

Agilent 1260 Infinity II Prime LC:

- Agilent 1260 Infinity II フレキシブルポンプ (G7104C)
- Agilent 1260 Infinity II バイアルサンブラ (G7129C)、一体型サンプル冷却器 (オプション #100) および一体型カラムコンパートメント (6 µL ヒーター、オプション #066) 付
- Agilent 1260 Infinity II ダイオードアレイ検出器 WR (G7115A)、10 mm の標準フローセル (G1315-60022) 付

Waters Alliance 2695 HPLC システムと Dual Absorbance Detector VWD 2487

ソフトウェア

Agilent OpenLab CDS 2.2 (M8413A)。Waters Alliance 2695 LC を OpenLab CDS 2.2 によってコントロールするために Waters DP 2017R2 をインストールしました。

サンプル

実験では、次の化合物を用いました。

- 塩酸メトクロプラミド
- **不純物 B:** メチル 4-(アセチルアミノ)-5-クロロ-2-メトキシベンゾエート
- **不純物 C:** 4-アミノ-5-クロロ-2-メトキシ安息香酸
- **不純物 D:** メチル 4-(アセチルアミノ)-2-メトキシベンゾエート
- **不純物 F:** 4-アミノ-5-クロロ-N-[2-(ジエチルアミノ)エチル]-2-ヒドロキシベンズアミド
- **不純物 G:** N'-(4-アミノ-5-クロロ-2-メトキシベンゾイル)-N,N-ジエチルエタン-1,2-ジアミン N-オキシド
- **不純物 H:** 4-(アセチルアミド)-2-ヒドロキシ安息香酸
- **不純物 9:** メチル 4-アミノ-2-メトキシベンゾエート

すべての化合物は 100 % メタノールで溶解し、濃度を 2 mg/mL とし、さらに水で希釈して、最終的な濃度を 20 ng/µL にしました。

試薬

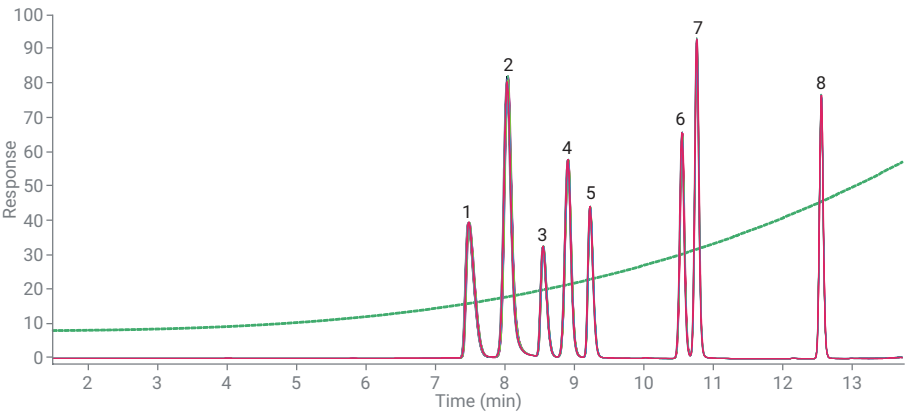
すべての溶媒は LC グレードを使用しました。超純水は、0.22 µm メンブレンユースポイントカートリッジ (Millipak) を備えた Milli-Q Integral システムで精製しました。アセトニトリルは Merck (ダルムシュタット、ドイツ) から購入し、ギ酸 (FA) は VWR (ダルムシュタット、ドイツ) から購入しました。メトクロプラミドは Sigma-Aldrich (タウフキルヘン、ドイツ) から入手し、メトクロプラミドの不純物は LGC Standards (テディントン、英国) から購入しました。

結果と考察

5 μm 粒子が充填された 4.6 $\times$ 150 mm カラムを装着した Waters Alliance 2695 LC で、凹型のグラジエント曲線を適用し、従来の分析メソッド (表 1) を用いてメトクロブラミドとその不純物を分析しました。図 1 に、10 回の連続分析のクロマトグラムの重ね表示と、各化合物のリテンションタイムおよび分離能を示します。

表 1. メトクロブラミドとその不純物の分析のクロマトグラフィーパラメータ

パラメータ	設定値
カラム	Agilent ZORBAX StableBond C18, 4.6 $\times$ 150 mm, 5 μm (p/n 883975-902)
溶媒	A) 0.1 % FA 水溶液 B) 0.1 % FA アセトニトリル溶液
グラジエント	0 分: 8 % B 14 分: 66 % B、カーブ 8 14.1 分: 8 % B、カーブ 6
ストップタイム	18 分
流量	2 mL/min
注入量	注入量: 10 μL 、ニードル洗浄 3 秒 (60 % アセトニトリル水溶液)
サンプル温度	8 $^{\circ}\text{C}$
カラム温度	25 $^{\circ}\text{C}$
DAD	270/4 nm、参照波長オフ、5 Hz



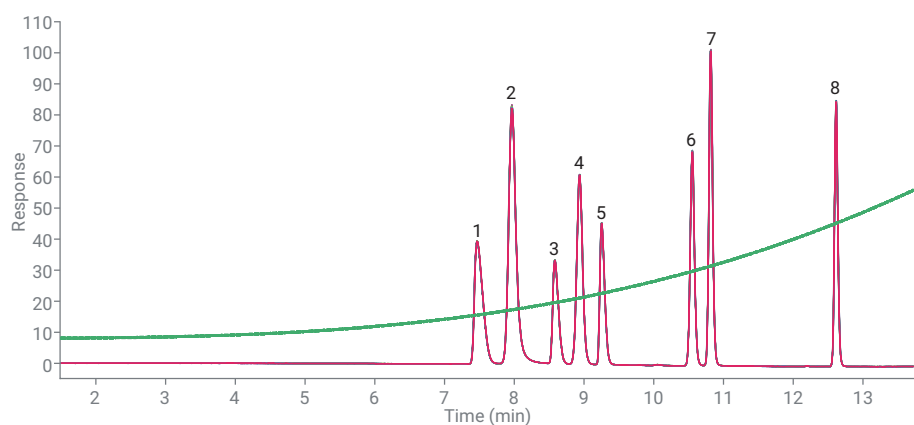
No.	化合物	RT (分)	RSD RT (%)	分離能
1	不純物 F	7.50	0.12	—
2	不純物 H	8.05	0.12	2.58
3	メトクロブラミド	8.57	0.07	2.84
4	不純物 9	8.93	0.07	2.16
5	不純物 G	9.24	0.05	2.08
6	不純物 C	10.57	0.04	9.93
7	不純物 D	10.78	0.03	1.75
8	不純物 B	12.57	0.01	16.46

図 1. メトクロブラミドとその不純物の分析。Waters Alliance 2695 LC システムで10 回の連続分析のクロマトグラムの重ね表示。クロマトグラムの緑の曲線は溶媒割合 B を示しています。

メトクロプラミドとその不純物を分離させる分析メソッドを、ISET を有効にした Agilent 1260 Infinity II Prime LC に移管しました。図 2 に、その結果のクロマトグラムの重ね表示と各化合物のリテンションタイムおよび分離能を示します。

1260 Infinity II Prime LC で ISET を使用することにより、凹型や凸型のグラジエントプロフィールを用いた分析が可能になります。OpenLab CDS と ChemStation で使用した 11 種類のグラジエントプロフィールの番号は、Waters の番号と同一です。今回の実験では、カーブ 8 (凹型) とカーブ 6 (直線) を用いました。

ISET によって分析メソッドを 1260 Infinity II Prime LC に移管すると、Alliance 2695 LC で得られたクロマトグラムに非常に近いクロマトグラムが得られました。図 3 に、1260 Infinity II Prime LC でのクロマトグラムと Alliance 2695 LC におけるクロマトグラムの比較を示します。



No.	化合物	RT (分)	RSD RT (%)	分離能
1	不純物 F	7.48	0.02	—
2	不純物 H	7.98	0.05	2.38
3	メトクロプラミド	8.59	0.01	3.58
4	不純物 9	8.95	0.01	2.29
5	不純物 G	9.26	0.03	2.19
6	不純物 C	10.56	0.03	10.51
7	不純物 D	10.83	0.01	2.46
8	不純物 B	12.63	0.01	18.93

図 2. メトクロプラミドとその不純物の分析。Agilent 1260 Infinity II Prime LC で 10 回の連続分析のクロマトグラムの重ね表示。クロマトグラムの緑の曲線は溶媒割合 B を示しています。

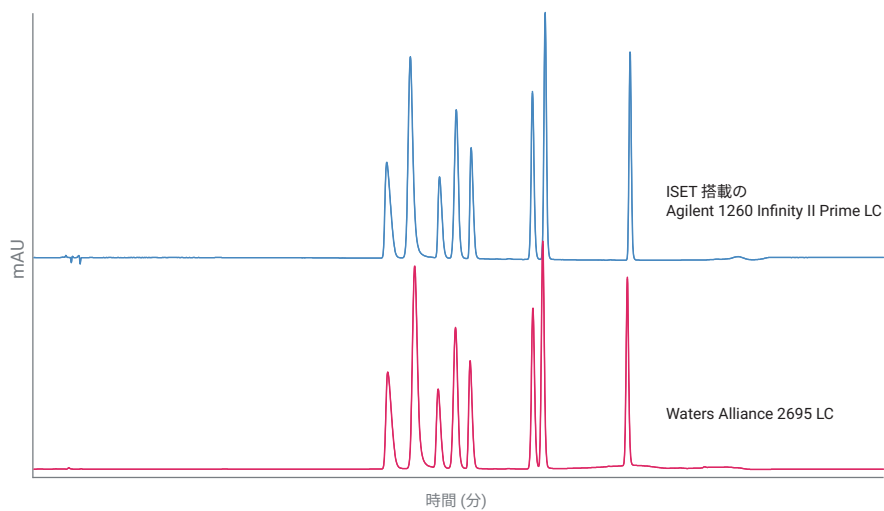


図 3. メトクロプラミドとその不純物を ISET 搭載の Agilent 1260 Infinity II Prime LC で分析したクロマトグラムと Waters Alliance 2695 LC で分析したクロマトグラムの比較

両システムにおけるリテンションタイムは良好に一致しており、最大偏差は約 0.9 % で、設定されたリテンションタイムの偏差である $\pm 5\%$ ² を明らかに下回りました。さらに、分離能の偏差を測定しました。1260 Infinity II Prime LC を用いた分析では、不純物 H を除くほとんどのピークで分離能が向上しました。表 2 にリテンションタイムと分離能の偏差を示します。

結論

ISET により、従来の HPLC のメソッドを Agilent 1260 Infinity II Prime LC ヘシームレスに移管できます。ISET を有効にすることで Waters Alliance LC のエミュレーションが可能になり、さらに凹型や凸型のグラジエントを使用することができます。

このアプリケーションノートでは、メトクロブラミドとその不純物の分析メソッドを Waters Alliance 2695 LC から Agilent 1260 Infinity II Prime LC へ移管しました。リテンションタイムと分離能の優れた相関が得られました。さらに、ほとんどのピークで分離能が向上し、ISET の使いやすさが明確に示されました。Agilent 1260 Infinity II Prime LC によるメトクロブラミドとその不純物の分析において、機器や分析メソッドの変更は必要ありませんでした。

表 2. Agilent 1260 Infinity II Prime LC と Waters Alliance 2695 LC におけるリテンションタイムと分離能の比較

化合物	RT (分) の偏差	RT の偏差 (%)	分離能の偏差	分離能の偏差 (%)
不純物 F	-0.02	-0.27	—	—
不純物 H	-0.07	-0.90	-0.20	-8.28
メトクロブラミド	0.02	0.23	0.73	20.48
不純物 9	0.02	0.22	0.13	5.58
不純物 G	0.02	0.23	0.12	5.25
不純物 C	-0.01	-0.09	0.58	5.51
不純物 D	0.05	0.46	0.71	28.76
不純物 B	0.06	0.48	2.47	13.06

参考文献

1. Gratzfeld-Huesgen, A. Agilent 1290 Infinity Binary LC System with ISET – Emulation of the Waters Alliance 2695 LC system analyzing β – blockers, Agilent Technologies Application Note, publication number 5991-1603EN, **2014**.
2. Agilent InfinityLab LC with ISET, Agilent Technologies User Manual, part number G7120-90310, **2017**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2018
Printed in Japan, June 1, 2018
5991-9394JAJP